



(51) 国際特許分類6 C12N 1/14, 1/20	A1	(11) 国際公開番号 WO99/10473 (43) 国際公開日 1999年3月4日 (04.03.99)
(21) 国際出願番号 PCT/JP98/03719 (22) 国際出願日 1998年8月21日 (21.08.98) (30) 優先権データ 特願平9/225296 1997年8月21日 (21.08.97) JP (71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) ニチモウ株式会社(NICHIMO CO., LTD.)(JP/JP) 〒100-0004 東京都千代田区大手町2丁目6番2号 Tokyo, (JP) (72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) 武部 実(TAKEBE, Minoru)(JP/JP) 森本正和(MORIMOTO, Masakazu)(JP/JP) 〒100-0004 東京都千代田区大手町2丁目6番2号 ニチモウ株式会社内 Tokyo, (JP) (74) 代理人 弁理士 中尾俊輔, 外(NAKAO, Shunsuke et.al.) 〒101-0047 東京都千代田区内神田1丁目3番5号 Tokyo, (JP)		(81) 指定国 JP, US, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). 添付公開書類 国際調査報告書
(54) Title: GROWTH PROMOTING MATERIAL FOR USEFUL MICROORGANISMS AND PROCESS FOR PRODUCING THE SAME (54) 発明の名称 有用微生物増殖促進素材およびその製造方法 (57) Abstract A growth promoting material for useful microorganisms which is obtained from a raw material prepared from grains, can grow and promote useful microorganisms which can effectively act for maintaining the health of an organism in the growth of the same, is hygienically excellent, can be easily prepared, and can serve as a low-cost nutrient; and a process for producing the growth promoting material, which can simultaneously grow useful microorganisms together with the growth promoting material. Such a growth promoting material has been unattainable by the prior art. A great feature of the process is that such a growth promoting material having the above excellent activity can be prepared by inoculating grains with an aspergillus to prepare koji and hydrolyzing the koji thus prepared.		

本発明の有用微生物増殖促進素材とその製造方法は、穀類を原料とした生成物を利用して得られる有用微生物増殖促進素材であって、生物の育成上、生物の健康を維持するために有効に作用する有用微生物を増殖促進させることができ、また、衛生的にも優れており、生産も容易であり、生産コストも低廉な栄養源となる有用微生物増殖促進素材と、当該有用微生物増殖促進素材の生産時に有用微生物を同時に増殖させることのできる製造方法とを得るものである。従来には本発明のような生成物は全く無かった。本発明は、穀類に麹菌を接種して製麹し、この製麹処理による生成物を加水分解することにより、前記のような優れた作用を有する有用微生物増殖促進素材を得ることを大きな特徴としている。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AL	アルバニア	FI	フィンランド	LK	スリ・ランカ	SI	スロヴェニア
AM	アルメニア	FR	フランス	LR	リベリア	SK	スロヴァキア
AT	オーストリア	GA	ガボン	LS	レソト	SL	シエラ・レオネ
AU	オーストラリア	GB	英国	LT	リトアニア	SN	セネガル
AZ	アゼルバイジャン	GD	グレナダ	LU	ルクセンブルグ	SZ	スワジランド
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GE	グルジア	LV	ラトヴィア	TD	チャード
BB	バルバドス	GH	ガーナ	MC	モナコ	TG	トーゴ
BE	ベルギー	GM	ガンビア	MD	モルドヴァ	TJ	タジキスタン
BF	ブルキナ・ファソ	GN	ギニア	MG	マダガスカル	TM	トルクメニスタン
BG	ブルガリア	GW	ギニア・ビサウ	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア	TR	トルコ
BJ	ベナン	GR	ギリシャ		共和国	TT	トリニダード・トバゴ
BR	ブラジル	HR	クロアチア	ML	マリ	UA	ウクライナ
BY	ベラルーシ	HU	ハンガリー	MN	モンゴル	UG	ウガンダ
CA	カナダ	ID	インドネシア	MR	モーリタニア	US	米国
CF	中央アフリカ	IE	アイルランド	MW	マラウイ	UZ	ウズベキスタン
CG	コンゴ	IL	イスラエル	MX	メキシコ	VN	ヴェトナム
CH	スイス	IN	インド	NE	ニジェール	YU	ユーゴスラビア
CI	コートジボアール	IS	アイスランド	NL	オランダ	ZW	ジンバブエ
CM	カメルーン	IT	イタリア	NO	ノルウェー		
CN	中国	JP	日本	NZ	ニュージーランド		
CU	キューバ	KE	ケニア	PL	ポーランド		
CY	キプロス	KG	キルギスタン	PT	ポルトガル		
CZ	チェコ	KP	北朝鮮	RO	ルーマニア		
DE	ドイツ	KR	韓国	RU	ロシア		
DK	デンマーク	KZ	カザフスタン	SD	スーダン		
EE	エストニア	LC	セントルシア	SE	スウェーデン		
ES	スペイン	LI	リヒテンシュタイン	SG	シンガポール		

明 細 書

有用微生物増殖促進素材およびその製造方法

技 術 分 野

5 本発明は、有用微生物増殖促進素材およびその製造方法に係り、特に穀類を原料とした生成物を利用して得られる有用微生物増殖促進素材およびその製造方法に関する。

本発明において、穀類とは、大豆、米、麦、とうもろこしやこれらの粕等を意味し、これらの穀類の少なくとも1種を原料基質として使用する。
10 穀類を原料とした生成物とは、前記穀類を原料とした食品（例えば、豆腐や豆乳等）、畜産用飼料および水産養殖用の餌料等を意味する。

本発明において、有用微生物増殖促進素材とは、生物の育成上、生物の健康を維持するために有効に作用する有用微生物（酵母等の真菌類、乳酸菌、ビフィズス菌やその他の有用な菌類）を増殖促進させる素材を意味す
15 る。

背 景 技 術

一般に、穀類を原料とした生成物に対する需要は多く、多種多様の生成物が提供されている。

従来から、とりわけ麹菌を用いて造られる醸造物として、穀類を原料とするものには、清酒、酢、醤油、味噌等があった。
20

しかしながら、それらのほとんどが嗜好性食品であり、従来には栄養面や健康維持を目的として、多量に食することのできる食品はなかったとい
って過言ではない。

更に説明すると、従来の醸造物における麹菌の働きは、清酒、焼酎、酢

等においては主として澱粉を糖化するための利用であり、醤油、味噌においては蛋白質を分解するための利用であった。そして、これらの醸造物においては麴菌のみでは製品化は困難であり、乳酸菌や酵母等の働きを利用することによりそれぞれの製品とされていることも知られている。これは
5 麴菌の有する特性を利用したことである。即ち、麴菌が乳酸菌や酵母等と相性よく共存共生できる性質があるために可能となったといえる。清酒や醤油や味噌等での乳酸菌や酵母の働きは比較的長期間の熟成中に腐敗菌の増殖を抑制することであり、乳酸菌が増殖して乳酸を生成し、酵母は嫌気条件下でアルコールを生成するために、それぞれの製品の製造が達成でき
10 ている。

この麴菌を利用した醸造物の清酒、味噌、醤油について乳酸菌との係わりを詳しく説明する。

まず、清酒においては、仕込みの段階で活性の強い清酒酵母のみを多量に増殖させるために乳酸菌によって生産される乳酸を利用する手法が採用
15 されている。この手法においては、自然に混入する乳酸菌を利用する伝統的手法（生もと、山廃もと）と、最初に乳酸を添加する方法（速醸もと）とがある。前記山廃もとについて図1について説明すると、8℃前後の低温でもろみ中に前記活性の強い清酒酵母を仕込まれた酒母中で、まず低温性の硝酸還元菌（*Pseudomonas*）が増殖し、亜硝酸を生成する（約1週間で、10ppm）。その後、菌数は減少する。次に、乳酸菌が増殖して乳酸が生成される。乳酸菌は、まず球菌が増殖し、続いて桿菌が増殖する。
20 その間に、産膜酵母および野生酵母などは、高濃度の糖分、亜硝酸、乳酸による低pH、低温などの作用により死滅する。仕込み後2週間ほどで乳酸菌以外の微生物は検出されなくなり、酒母を培養するのに最適な条件と

なる。このとき優良清酒酵母を接種する。残存する乳酸菌は、酒母の発酵が活発になると生成したアルコールにより死滅するので、接種した優良清酒酵母のみが多量に存在する酒母が得られる。

5 一方では酒造りにおいては、火落菌といわれる乳酸菌がアルコール分を
好んで発育し、白濁、酸の増加、香りの変化等の変敗を起こすため、むし
ろ問題視されている。この火落菌については、火落酸（メバロン酸）を要
10 求する乳酸菌であることが分かった。このメバロン酸はアスペルギルス・
オリゼー等の麹菌により製麹工程中に菌の増殖に伴って蓄積されるという
ことが確認されている。因みに、このメバロン酸を要求する乳酸菌にはバ
クテリオシンを生成する菌が多いといわれている。

また、味噌や醤油においては、熟成過程の雑菌の増殖抑制対策および有用酵母の増殖促進として乳酸菌を利用している。また、一部の甘味噌類を除いた味噌や醤油においては、食塩が10%以上含まれているから、乳酸菌は熟成中に耐塩性の乳酸菌に変遷する。

15 このように麴菌を利用した製品は、麴菌と乳酸菌や酵母との共存共生のプロセスを経てそれぞれの製品となるが、基質となる穀類に対して麴菌と乳酸菌や酵母を共存共生させる作用を利用して、人や動物の整腸作用等の健康維持を目的とした醸造物の食品はなかった。

20 乳酸菌を利用した健康食品としてはヨーグルトが挙げられるが、ヨーグルトは麹菌を利用した食品ではない。

一方、近年、抗生物質（アンチバイオテックス）については、1941年のペニシリンの臨床応用以来、数多くの抗生物質が実用化され、感染症に対して大きく寄与したが、その安易な使用によってMRSA（メチシリン耐性黄色ブドウ球菌）や、VRSE（バイコマイシン耐性表皮ブドウ球菌）

菌)等の薬剤耐性菌の出現をもたらした。人畜共通感染症のために人と家畜とが同じ抗生物質を投与され、多くの養豚場、養鶏場において、薬剤耐性菌が確認され、社会的に大きな問題となっている。現在のところ、これらについての解決策はないといわれている。

5

微生物の共存共生作用の面に関しては、特に乳酸菌の働きに着目し、多くの研究が進められているが、食品としてはまだ乳製品であるヨーグルトとしての利用以外にはないと思われる。乳酸菌には、前述した短鎖脂肪酸や乳酸等の生成によるpHの低下での腐敗細菌や病原性細菌の増殖抑制とは別に、ペプチドであるバクテリオシン等の抗菌性物質や粘質多糖類の働きについても注目されている。

10

また、乳酸菌の潜在的能力である生理活性についての研究成果も今後期待できるといわれている。

従って、プロバイオテックスとしての機能により、有害菌(感染症原因菌等)の増殖を抑えることは、抗生物質の投与のような耐性菌の出現の心配はないので、今後大いに期待したい対応策になり得るものと思われる。

15

また、乳酸菌を主体とする有用微生物により家畜の腸内におけるサルモネラ菌の増殖を抑制することについて提案されている(特表平9-506625号公報参照)。この従来例においては、家禽の盲腸内容物で培養させた乳酸菌を主体とする29種の細菌の共生体がサルモネラ菌の嫌う短鎖脂肪酸を生成することに着目し、家畜の腸内でサルモネラ菌の増殖を抑制させる共生体を提案している。この従来例に至ったのは、細菌の共生体を盲腸内容物を栄養源にして培養させたことで、これらの細菌群が腸内に滞り、短鎖脂肪酸を生成し、サルモネラ菌の増殖を抑制する働きを十分に発揮することが期待できたからであろう。

20

しかしながら、この従来例では腸内で細菌の働きを出させるために鶏の盲腸内容物を使って予め培養させるようにしているために、次のような不都合が発生する。即ち、鶏の盲腸内容物は衛生面を十分に考慮しなければならず、細菌の共生体の培養に極めて厳格な衛生管理を行なう必要があり、
5 応用面で汎用性に乏しく、食品としての応用に不適當である。

そこで、鶏の盲腸内容物等の衛生上問題のある栄養源とは異なり、衛生的にも優れており、生産も容易であり、生産コストも低廉な栄養源となる有用微生物増殖促進素材の開発と、当該有用微生物増殖促進素材の生産時に有用微生物を同時に増殖させることのできる技術の開発が要望されている。
10

発 明 の 開 示

本発明はこれらの点に鑑みてなされたものであり、麴菌の有する乳酸菌や酵母との共存共生を利用したものであり、本出願人が特開平 7 - 2 3 7
15 2 5 号公報において既に提案している穀類を原料とした生成物を利用して得られる有用微生物増殖促進素材であって、生物の育成上、生物の健康を維持するために有効に作用する有用微生物を増殖促進させる有用微生物増殖促進素材とその製造方法を提供することを目的とする。

本発明の他の目的は、衛生的にも優れており、生産も容易であり、生産
20 コストも低廉な栄養源となる有用微生物増殖促進素材と、当該有用微生物増殖促進素材の生産時に有用微生物を同時に増殖させることのできる製造方法とを提供することにある。

本出願人は、前記特開平 7 - 2 3 7 2 5 号公報において、穀類中のフィチン酸を、穀類の状態を固形状にしたままで容易に除去することができ、

生成物中に含有されているビタミンB類等の活性を高く維持して、当該生成物中に含有されているミネラルの吸収が容易であり、更にその吸収を促進可能な生成物を得ることができ、製造コストも低廉な穀類を原料とした生成物およびその製造方法を提案している。

5

そして、本発明者は、前記目的を達成するために、本出願人が前記公報において提案した穀類を原料とした生成物について鋭意研究し、プロバイオテックスの技術を取り入れることにより、当該穀類を原料とした生成物が生物の健康を維持するために有効に作用する有用微生物を増殖促進させることや、当該穀類を原料とした生成物に麹菌と前記有用微生物とが共存共生して増殖促進されることを見出だして本発明を完成させたものである。

10

更に説明すると、ここでいうプロバイオテックスは、穀類に麹菌を接種して製麹し、この製麹処理による生成物に加水することにより当該生成物中の蛋白質およびまたは糖質を加水分解するとともに、前記穀類中のフィチン酸をも所定量分解除去することにより製せられるが、その工程で乳酸菌や酵母あるいはビフィズス菌等の有用微生物が共存共生できる環境となる。即ち、乳酸菌や酵母あるいはビフィズス菌等は、麹菌と一緒に同一の基質となる前記生成物において共存共生しながら活発に増殖できるということを利用したところにある。

15

20

本発明者は更に鋭意研究し、前記生成物において共存共生しながら活発に増殖した乳酸菌を含む前記有用微生物が、（１）人や家畜の腸内に常在して増殖でき、（２）人や家畜等の宿主にとって悪影響を及ぼすことがなく、（３）腸内で効率良く短鎖脂肪酸等を産生できることを発見し、しかも前記生成物には家畜の腸内で生育できる乳酸菌等の栄養源となり、サルモネラ菌等有害菌の嫌う短鎖脂肪酸の生成が充分可能となる大腸に至るま

では消化されない物質（未消化物＝酵素未分解物）を含有していることを発見して、本発明を完成させた。また、更に、前記生成物とレジスタントスターチ（健常人の小腸腔内において消化吸収されることのない澱粉および澱粉の部分水解物）とをあわせることにより、前記酵素未分解物とレジスタントスターチとが一緒になって家畜の腸内で育成できる乳酸菌等の栄養源となることを発見して、本発明を完成させた。 本来プロバイオテックスとは生きている微生物菌体であり、例えば、麹菌、酵母および乳酸菌等を混合した形での製品はあるが、本発明のように麹菌、酵母、乳酸菌等を同一基質（穀類）に培養し、菌体を含む培養物自体を製品化したものはない。

麹菌を利用した醸造物（清酒、味噌、醤油等）については前述の通り、麹菌、乳酸菌、酵母を共存共生させた工程で得られた製品であるが、これらは製品の品質上有効な手法であり、プロバイオテックスの目的ではない。そのことは清酒、醤油に関しては製品中の生菌は殺菌されており、味噌に関してもむしろ製品管理の面で生菌はむしろ問題となる場合が多い。また、これらの醸造物では仕込み、熟成期間が長いことから、それぞれの微生物の遷移が生じ、麹菌、酵母、乳酸菌等を同一基質（穀類）中に大量に培養した製品とはなり得なかった。

このようにしてなされた本発明の有用微生物増殖促進素材は、穀類に麹菌を接種して製麹し、この製麹処理による生成物に加水することにより当該生成物中の蛋白質およびまたは糖質を加水分解するとともに前記穀類中のフィチン酸を所定量除去することにより製せられることを特徴とする。この有用微生物増殖促進素材は、有用微生物を含んでいる食物に添加されると、当該有用微生物に栄養を付与し、麹菌と共存共生し、当該有用微生物

物の増殖を促進させ、当該有用微生物の有する種々の健康促進作用が発揮されるとともに、有害菌の増殖を確実に抑制させることができ、当該食物を食する生物の健康の維持を向上させることができる。更に、この生成物には人や家畜の腸内で育成できる乳酸菌等の栄養源となり、サルモネラ菌等有害菌の嫌う短鎖脂肪酸（酢酸、酪酸、プロピオン酸、乳酸、コハク酸等）等の生成が充分可能となる大腸に至るまでは消化されない物質（未消化物＝酵素未分解物）を含有しているので、乳酸菌等の有用微生物が動物の腸内において未消化物を栄養源としてサルモネラ菌等有害菌の嫌う短鎖脂肪酸等を良好に生成して、サルモネラ菌の増殖を確実に抑制する。しかも、前記従来例と異なり、鶏の盲腸内容物を栄養源としないので、衛生的にも極めて優れている。

更に、前記生成物にレジスタントスターチを加えて有用微生物増殖促進素材とすると、前記生成物に含有されている酵素未分解物とレジスタントスターチとが一緒になって家畜の腸内で生育できる乳酸菌等の多量の栄養源となり、乳酸菌等の有用微生物が動物の腸内において未消化物を栄養源としてサルモネラ菌等有害菌の嫌う短鎖脂肪酸をより多くに生成して、サルモネラ菌等有害菌の増殖をより確実に抑制することができる。

また、本発明の有用微生物増殖促進素材は、前記製麹処理による生成物中に含まれている有用微生物およびまたは前記製麹処理による生成物に添加された有用微生物が、前記加水分解の際に増殖促進させられていることを特徴とする。この有用微生物増殖促進素材においては、加水分解工程中に麹菌と有用微生物とが同一基質である前記生成物に共存共生し、有用微生物は生成物から栄養の付与を受けて増殖を促進させられて、生成物に麹菌と有用微生物とが一緒に培養された状態となる。従って、この有用微生物

物増殖促進素材を食物に添加すれば、当該有用微生物増殖促進素材にすでに培養された有用微生物や前記食物に含有されている有用微生物が更に増殖促進され、当該有用微生物の有する種々の健康促進作用が発揮されるとともに、例えばサルモネラ菌等の有害菌の増殖を確実に抑制させることができ、当該食物を食する生物の健康の維持を向上させることができる。ここで言うすでに培養された有用微生物とは、前述のメバロン酸を要求したり、バクテリオシンを生成したりする乳酸菌等を含む製造工程中に自然に混入した有用微生物や加水分解工程において添加された有用微生物のことである。

本発明の有用微生物増殖促進素材の製造方法は、穀類に麴菌を接種して製麴し、この製麴処理による生成物に加水することにより当該生成物中の蛋白質およびまたは糖質を加水分解するとともに前記穀類中のフィチン酸を所定量除去して、有用微生物を増殖促進させる有用微生物増殖促進素材を製造することを特徴とする。

本発明の有用微生物増殖促進素材の製造方法によれば、原料である穀類に麴菌を接種して製麴することにより、麴菌を増殖させて穀類中のフィチン酸を除去し、更に製麴処理による生成物に加水することにより当該生成物中の蛋白質およびまたは糖質を加水分解すると同時にフィチン酸を所定量除去するものであるために、当該穀類の状態を固形状にしたままで所定量のフィチン酸を容易に、かつ、短時間で確実に除去することができ、更に、有用微生物の増殖を促進させ、有用微生物の有する種々の健康促進作用が発揮されるとともに、例えばサルモネラ菌等の有害菌の増殖を確実に抑制させることができ、生物の健康の維持を向上させることができる有用微生物増殖促進素材を製造することができ、製造工程も簡単であり、製造

コストも低廉となる。

また、本発明の穀類を原料とした生成物の製造方法によれば、前記加水分解工程において、前記製麹処理による生成物中に含まれている有用微生物およびまたは前記製麹処理による生成物に添加された有用微生物が増殖促進させられることを特徴とする。

この本発明の有用微生物増殖促進素材の製造方法によれば、加水分解工程中に麹菌と有用微生物とが同一基質である前記生成物に共存共生し、有用微生物は生成物から栄養の付与を受けて増殖を促進させられて、生成物に麹菌と有用微生物とが一緒に培養された状態となる。従って、この有用微生物増殖促進素材を食物に添加すれば、当該有用微生物増殖促進素材にすでに培養されている有用微生物や前記食物に含有されている有用微生物が更に増殖促進され、当該有用微生物の有する種々の健康促進作用が発揮されるとともに、例えばサルモネラ菌等の有害菌の増殖を確実に抑制させることができ、当該食物を食する生物の健康の維持を向上させることができる。そして、このように作用する有用微生物増殖促進素材を製造する工程も簡単で、製造コストも低廉にして製造することができる。

前記有用微生物としては、真菌類、乳酸菌およびビフィズス菌の中の少なくとも1種とすることができ、有用微生物増殖促進素材の用途等に応じて適宜に選択することができる。

このように本発明の有用微生物増殖促進素材およびその製造方法は構成され作用するものであるから、本出願人が既に提案している穀類を原料とした生成物を利用して得ることができ、当該穀類を原料とした生成物の有する効果を有するとともに生物の育成上、生物の健康を維持するために有効に作用する有用微生物を増殖促進させることができる。

即ち、穀類を原料とした生成物によれば、穀類中のフィチン酸を、穀類の状態を固形状にしたままで容易に除去することができ、生成物中に含有されているビタミンB類等の活性を高く維持して、当該生成物中に含有されているミネラル等の吸収が容易であり、更にその吸収を促進可能な生成物を得ることができ、製造工程も簡単であり、製造コストも低廉となる等の効果を奏する。

更に、この生成物には家畜の腸内で生育できる乳酸菌等の栄養源となり、サルモネラ菌等有害菌の嫌う短鎖脂肪酸の生成が充分可能となる大腸に至るまでは消化されない物質（未消化物＝酵素未分解物）を含有しているので、乳酸菌等の有用微生物が動物の腸内において未消化物を栄養源としてサルモネラ菌等有害菌の嫌う短鎖脂肪酸を良好に生成して、サルモネラ菌等有害菌の増殖を確実に抑制する。しかも、前記従来例と異なり、鶏の盲腸内容物を栄養源としないので、衛生的にも極めて優れている。

更に、前記生成物にレジスタントスターチを加えて有用微生物増殖促進素材とすると、前記生成物に含有されている酵素未分解物とレジスタントスターチとが一緒になって人や家畜の腸内で生育できる乳酸菌等の多量の栄養源となり、乳酸菌等の有用微生物が動物の腸内において未消化物を栄養源としてサルモネラ菌等有害菌の嫌う短鎖脂肪酸をより多くに生成して、サルモネラ菌等有害菌の増殖をより確実に抑制することができる。

更に、有用微生物増殖促進素材によれば、この有用微生物増殖促進素材を例えば有用微生物を含んでいる食物に添加すると、当該微生物の増殖を促進させ、当該有用微生物の有する種々の健康促進作用が発揮されるとともに、サルモネラ菌等の有害菌の増殖を確実に抑制させることができ、当該食物を食する生物の健康の維持を向上させることができ、生物の育成上、

生物の健康を維持するために有効に作用する有用微生物を増殖促進させることができる。

また、製麴終了によって得られた生成物に対してその後に加水分解の時に、有用微生物を生成物に自然由来およびまたは別途添加によって入れると、加水分解工程中に麴菌と有用微生物とが同一基質である前記生成物に共存共生し、有用微生物は生成物から栄養の付与を受けて増殖を促進させられて、生成物に麴菌と有用微生物とが一緒に培養された状態となる。そして、この有用微生物増殖促進素材を食物に添加すれば、当該有用微生物増殖促進素材にすでに培養されている有用微生物や前記食物に含有されている有用微生物が更に増殖促進され、当該有用微生物の有する種々の健康促進作用が発揮されるとともに、サルモネラ菌等の有害菌の増殖を確実に抑制させることで感染症を防止できるので、当該食物を食する生物の健康の維持を向上させることができる。

更に本発明によれば、このように作用する有用微生物増殖促進素材を製造工程も簡単で、製造コストも低廉にして製造することができる。

図面の簡単な説明

発明を実施するための最良の形態

- 20 図 1 は山廃もとにおける微生物の遷移を示す特性図、
図 2 は本発明により大豆粕中のフィチン酸を除去した生成物の製造方法の 1 実施例を示す工程図、
図 3 は発酵大豆飼料および未処理大豆飼料投与による盲腸内容物の pH および盲腸内総脂肪酸量の影響を示す特性図、

図 4 は発酵大豆飼料および未処理大豆飼料投与による盲腸内容物の影響を示す特性図である。

発明を実施するための最良の形態

5 以下、本発明の実施例を図 2 から図 4 について説明する。

図 2 はその実線部分において本発明により穀類の 1 種である大豆粕から有用微生物増殖促進素材を製造する製造方法の 1 実施例を示し、同図鎖線部分において更に本発明の製造方法の他の実施例を示している。

10 まず、この図 2 の実線に示す工程に沿って本発明方法の 1 実施例を説明する。

15 まず、大豆粕を蒸煮する。この蒸煮を施すことにより、蒸煮を行わない場合に比較して麹菌の増殖が容易となる。また、この大豆粕の蒸煮は製造目的等に応じて蒸煮とその後の製麹処理とを別個に行なうバッチ式や、蒸煮とその後の製麹処理とを連続して行なうことのできる製麹装置によって連続式で行うと良い。

そして、この蒸煮が終了した大豆粕を一旦冷却して、大豆粕中の水分量を麹菌が増殖可能な量（例えば、約 36 重量％）とさせる。

このようにして水分量を整えられた大豆粕に対して、本発明方法が以下のようにして行なわれる。

20 即ち、蒸煮が終了した大豆粕単体を冷却して 40℃以下になった時に、麹菌からなる種麹を所定重量比だけ接種し、両者が均一となるまで混合する。

その後、混合物を製麹装置内で品温を約 32℃程度にコントロールしながら放置すると大豆粕が麹菌によって発酵させられて、即ち製麹処理が進

行して約 38℃程度まで昇温するとともに生成物が締まってくる。その後
第 1 アジテーションとして製麴が進行している生成物を回転攪拌してほぐ
すとともに、エアレーションとして内部に空気を供給し、品温を約 33～
35℃程度まで下げるようにコントロールし、更にエアレーションを継続
しながら製麴処理を進行させる。その後、第 2 アジテーションを施すとと
もに、エアレーションを継続する。このようにして大豆粕を麴菌により発
酵させて、大豆粕中のフィチン酸を所定量低減させるまで製麴を行なう。

この場合、大豆粕に麴菌が増殖することにより麴菌が作り出すフィター
ゼやフォスファターゼというフィチン酸を分解する酵素が大豆粕中のフィ
チン酸を分解除去する。

すなわち、ミオーイノシトールの水酸基のすべてにリン酸基が結合した
化合物であるフィチン酸よりフィチン酸を分解する酵素が前記リン酸基を
遊離させるようにしてフィチン酸を所定量分解して、ミオーイノシトール
のビタミン B 群として乳酸菌等の有用微生物の増殖を促進させる栄養物と
なる。

この製麴に用いる麴菌としては、古くからの日本独特の発酵食品やテン
ペに用いられている麴菌であり、食品として安全なアスペルギルス・ウサ
ミ、アスペルギルス・カワチ、アスペルギルス・アワモリ、アスペルギル
ス・サイトイ、アスペルギルス・オリゼー、アスペルギルス・ニガー等の
アスペルギルス属およびリゾープス属の麴菌を用いるとよい。

この発酵時間については、使用する麴菌の種類に応じて、少なくとも 2
4 時間以上であり、大豆粕中のフィチン酸を所定量除去させるに十分な発
酵時間とするとよい。

本実施例においては、フィチン酸を更に除去し、合わせて蛋白質および

または糖質の加水分解を行なうものである。ここで糖質とは少糖類等の糖類や澱粉等を含むものである。製麴後の加水分解も基質をフレーク状態に保持したまま行なわれる。

すなわち、本実施例においては、製麴終了後の生成物に、例えば50重量%の水分量となるように加水してから30～45℃に加温し、保温しながら所定時間保持し、例えば有用微生物である乳酸菌の菌数が 10^8 cfu/g以上になるまでの必要な時間を保持することで生成物が得られる。

また、フィチン酸の除去は、イノシトール6リン酸からなるフィチン酸からリン酸基を少なくとも1基遊離させることにより行なわれるが、少なくとも2基のリン酸基を遊離させたイノシトール4リン酸、イノシトール3リン酸、イノシトール2リン酸、イノシトール1リン酸およびイノシトールは水溶性を有し、穀類を原料とした生成物中に含有されているカルシウム等からなるミネラルの吸収を大きく促進させる作用がある。

更に説明すると、前記イノシトール6リン酸およびイノシトール5リン酸は、イオン結合が強く、結合したカルシウムを溶出させなくなり、カルシウムの吸収作用を大きく抑えてしまうものである。これに対し、イノシトール4リン酸からイノシトール1リン酸は、カルシウムを良好に結合させるとともに、必要な時には結合したカルシウムを容易に溶出させる適度な親和力を有するものであり、前記したようなカルシウムの吸収を促進させるという特徴的な作用を発揮するものである。この場合、発酵時間および加水分解時間ならびに加水分解温度を、穀物の種類、状態、特性、分量、麴菌の種類、状態、特性、分量、生成物の種類、特性等に応じて調整することにより、フィチン酸から遊離させるリン酸基数を制御するとよい。

このようにして製造された本実施例の有用微生物増殖促進素材は、有用

微生物を含んでいる食物に添加されると、当該有用微生物に栄養を付与し、
麹菌と共存共生し、当該有用微生物の増殖を促進させ、当該有用微生物の
有する種々の健康促進作用が発揮されるとともに、有害菌の増殖を確実に
抑制させることができ、当該食物を食する生物の健康の維持を向上させる
ことができる。

更に、この生成物には家畜の腸内で生育できる乳酸菌等の栄養源となり、
サルモネラ菌等有害菌の嫌う短鎖脂肪酸の生成が充分可能となる大腸に至
るまでは消化されない物質（未消化物＝酵素未分解物）を含有しているの
で、乳酸菌等の有用微生物が動物の腸内において未消化物を栄養源として
サルモネラ菌等有害菌の嫌う短鎖脂肪酸を良好に生成して、サルモネラ菌
等有害菌の増殖を確実に抑制する。しかも、前記従来例と異なり、鶏の盲
腸内容物を栄養源としないので、衛生的にも極めて優れているものとなる。

更に、前記生成物にレジスタントスターチを加えて有用微生物増殖促進
素材とすると、前記生成物に含有されている酵素未分解物とレジスタント
スターチとが一緒になって家畜の腸内で生育できる乳酸菌等の栄養源とな
り、乳酸菌等の有用微生物が動物の腸内において未消化物を栄養源として
サルモネラ菌等有害菌の嫌う短鎖脂肪酸をより多くに生成して、サルモネ
ラ菌等有害菌の増殖をより確実に抑制することができる。

次に、図2の鎖線に示す部分により本発明方法の他の実施例を説明する。

本実施例においては、製麹処理によって生成された生成物に対して、加
水分解工程において麹菌と有用微生物とを共存共生させて増殖促進させる
ようにしたものである。

従って、製麹処理が終了するまでは前記実施例と同一の工程で行なわれ
る。そして、加水分解の際に有用微生物を製麹処理による生成物に添加す

るか、およびまたは原料となる穀類に含有されていた自然由来の有用微生物をもって、有用微生物を生成物中に入れる。

この有用微生物としては、酵母等の真菌類、乳酸菌（火落酸（メバロン酸）を要求する乳酸菌を含む）、ビフィズス菌やその他の有用な菌類であ
5 5
って、生物の育成上、生物の健康を維持するために有効に作用するものであればよい。前記真菌類、乳酸菌およびビフィズス菌は基質となる穀類との相性が非常によく、穀類を栄養源として増殖するものである。そして、製麴処理による生成物に入れる有用微生物の種類としては、基質となる穀物の種類、製造すべき最終製品としての食物の種類、用途等に応じて少なく
10 10
くとも 1 種類とすればよい。

このようにして有用微生物を製麴処理による生成物中に入れて加水分解工程を開始させると、加水分解工程中に製麴処理において増殖した麴菌と有用微生物とが同一基質である前記生成物に共存共生し、有用微生物は生成物から栄養の付与を受けて増殖を促進させられて、生成物に麴菌と有用
15 15
微生物とが一緒に培養された状態となる。特に、製麴処理による生成物中には加水分解工程においてビタミン B 類が生成され、有用微生物にとっても吸収しやすい栄養価の高い成分が生成されるために、これらを栄養源として有用微生物の増殖が促進される。更に、本実施例の生成物内には、麴菌の酵素で種々の成分が加水分解されたものは、大豆粕を消化酵素で分解
20 20
したものに相当し、消化物と未消化物とが分離している状態である。麴菌の酵素で加水分解された分解物（消化物）は人や家畜が摂取すると直ちに吸収されるが、未分解物は吸収されずに町内で常在している有用な乳酸菌等の栄養源となり、人や家畜にとって有用な短鎖脂肪酸の生成を増加させる。

しかも、前記生成物は乳酸菌が活発に増殖できる培地であるから、増殖したその乳酸菌等が家畜の腸内で前記生成物に含有される酵素未分解物を栄養源として常在できるものである。そして、最終的には麹菌と有用微生物とが同一基質である生成物に培養されているプロバイオテックスを利用した有用微生物増殖促進素材が生成される。

このようにして製造された本実施例の有用微生物増殖促進素材を食物に添加すれば、当該有用微生物増殖促進素材にすでに培養されている有用微生物や前記食物に含有されている有用微生物が更に増殖促進され、当該有用微生物の有する種々の健康促進作用が発揮されるとともに、サルモネラ菌等の有害菌の増殖を確実に抑制させることで感染症を防止できるので、当該食物を食する生物の健康の維持を向上させることができる。特に、乳酸菌は、生菌の状態ばかりでなく死んだ状態においても、人もしくは動物の体内に接種された場合に、体内の生理活性を活発化させる特性を有しており、極めて顕著な健康促進作用が発揮される。

次に、本発明の有用微生物増殖促進素材について具体例をもって説明する。

表1は麹菌としてアスペルギルス・アワモリを用いて本発明方法によって生成した発酵大豆粕A a と未処理大豆粕とにおけるビタミンB群およびイソフラボン化合物の含有量を示したものである。

表 1

	大豆粕 A a	未処理大豆粕
サイアミン(ビタミンB1)	0. 4 0 (mg/100g)	0. 6 1 (mg/100g)
リボフラボン(ビタミンB2)	0. 6 7 (mg/100g)	0. 3 1 (mg/100g)
ビ タ ミ ン B 6	0. 8 8 (mg/100g)	0. 6 7 (mg/100g)
葉 酸	0. 3 4 (mg/100g)	0. 3 3 (mg/100g)
パ ン ト テ ン 酸	3. 6 4 (mg/100g)	1. 8 8 (mg/100g)
ビ オ チ ン	6 3. 7 (μg/100g)	4 6. 9 (μg/100g)
ナ イ ア シ ン	2. 4 8 (mg/100g)	2. 0 0 (mg/100g)
遊離イノシトール	4 5 0 (mg/100g)	3 6 (mg/100g)
ダ イ ジ ン	5. 4 (mg/100g)	1 2 0 (mg/100g)
ダ イ ゼ イ ン	8 0 (mg/100g)	3. 7 (mg/100g)
ゲ ニ ス チ ン	1 3 (mg/100g)	1 7 0 (mg/100g)
ゲ ニ ス テ イ ン	7 8 (mg/100g)	4. 1 (mg/100g)

15

20

この表1によれば、リボフラボン、ビタミンB6、パントテン酸、ビオチン、遊離イノシトール等のビタミンB群の含有量が、本発明によって生成された味噌用麹菌で処理した発酵大豆粕の方が未処理大豆粕に比較して非常に大きく増加させられていることが分かる。特に、遊離イノシトールの量が未処理大豆粕よりもきわめて多いのは麹菌のフィチン酸分解酵素で分解されたためである。従って、本発明の有用微生物増殖促進素材には、

プロバイオテックスを実現させるための有用微生物にとって極めて吸収し
やすい栄養価の高い栄養源となるビタミンB群の含有量が高いことが分か
る。これにより、本発明の有用微生物増殖促進素材においては、麹菌と有
用微生物との共存共生を高めてプロバイオテックスを可能とさせることが
分かる。

また、表1によれば、イソフラボン化合物がフィチン酸と同様に良好に
分解されている。即ち、未処理大豆粕においては、グリコシドであるダイ
ジンおよびゲニスチンがアグリコンであるダイゼインおよびゲニステイン
に比較して極めて多いのに、発明によって生成された発酵大豆粕A aにお
いては、グリコシドであるダイジンおよびゲニスチンが分解されて極めて
少なくなり、分解によって生成されたアグリコンであるダイゼインおよび
ゲニステインが極めて多くなっている。

このように本発明によれば、大豆粕中のイソフラボン化合物のうち薬理
作用の高いアグリコン類を極めて高い生成比率をもって製造することがで
きる。

次に、上記のような特性を有する本発明の有用微生物増殖促進素材によ
る有用微生物の増殖促進作用を特性確認実験の内容をもって説明する。

実験1：本発明の2種類の麹菌の発酵させた大豆粕等による乳酸菌発酵
促進実験

目的

2種類の麹菌の発酵させた大豆粕等を試料である牛乳に添加することによ
って乳酸菌の増殖が促進されることを調べる。

実験方法

5個のビーカーに、それぞれ牛乳を100mlを入れ、対称区には資料

の牛乳のみを入れ、比較区 1、2 にはそれぞれ未処理大豆とオリゴ糖を 0.6 % 添加し、試験区 1 にはアスペルギルス・アワモリを用いた発酵大豆粕 A a を 0.6 % 添加し、試験区 2 には麹菌として味噌用麹菌であるアスペルギルス・オリゼーを用いて発酵大豆粕 A a と同一条件で製造された発酵大豆粕 (A O) を 0.6 % 添加した。その後、ウォーターバスにて各ビーカーを 40℃ に保温し、0、1、4、20 時間後の牛乳の pH を測定し、臭気を調べた。

結果

牛乳の pH および臭気は表 2 のように変化した。

表 2

	対 照 区	比 較 区 1	比 較 区 2	試 験 区 1	試 験 区 2
添 加 物	な し	未処理大豆	オリゴ糖	大豆粕 (A a)	大豆粕 (A O)
0 時間後	6. 6 5	6. 6 7	6. 6 6	6. 5 6	6. 5 8
1 時間後	6. 5 6	6. 6 1	6. 5 8	6. 4 6	6. 4 8
4 時間後	6. 5 7	6. 6 6	6. 5 8	6. 4 5	6. 4 4
20 時間後	6. 3 0	6. 2 0	6. 5 2	6. 2 3	4. 8 8
臭 い	牛 乳 臭	腐 敗 臭 (+++)	牛 乳 臭	腐 敗 臭 (+)	ヨーグルト臭 (+++)

() は臭いの強さを示す。 (+) : 若干臭う

(++) : かなり臭う

(+++): 強烈に臭う

この表 2 より、牛乳のみの対称区およびオリゴ糖を添加した比較区 2 においては、臭気の変化はなく、乳酸菌は増殖しなかったといえる。未処理大豆を添加した比較区 1 においては、強い腐敗臭 (魚の腐敗臭 = アミン臭) を呈し、乳酸菌は増殖しなかったといえる。

これに対し、発酵大豆粕 A a を添加した試験区 1 においては、弱いなが

らも腐敗臭を呈したが、その臭いはアミン臭ではなかった。このことは、発酵大豆粕 A a に自然由来で入っていた乳酸菌が増殖されていて、その増殖した乳酸菌が元来乳酸菌を含有していない牛乳中の腐敗菌の活動のある程度抑制して、牛乳がひどく腐敗することを防止していることが分かった。

5 また、味噌用麹菌であるアスペルギルス・オリゼーを用いて本発明の製造方法に従って製造された発酵大豆粕（A O）を添加した試験区 2 においては、p H は他の区に比較して大きく低減されており、腐敗臭は全く感じられず、強いヨーグルト臭を呈した。このことより本発明の有用微生物増殖促進素材としては味噌用麹菌である *Aspergillus oryzae* を用いた発酵大豆粕
10 （A O）を加えた場合、自然由来で入っていた乳酸菌が効率よく増殖させ、優れていることが分った。

 この試験区 1、2 の結果より、本発明の加水分解工程において、製麹処理による生成物に入れられた有用微生物である乳酸菌は増殖促進されていることが分かる。即ち、本発明の発酵大豆粕 A a や発酵大豆粕（A O）には、
15 乳酸菌の育成促進因子を含んでおり、乳酸菌が増殖することによって、他の雑菌の育成が抑制されることがわかる。特に、アスペルギルス・オリゼーを使用した発酵大豆粕（A O）にはその効果が高いことがわかる。これにより強いプロバイオテックス的な働きが行なわれることが分かる。更に説明すれば、加水分解工程中に麹菌と有用微生物とが同一基質である前
20 記生成物に共存共生し、有用微生物は生成物から栄養の付与を受けて増殖を促進させられて、生成物に麹菌と有用微生物とが一緒に培養された状態となることが分かる。そして、この有用微生物増殖促進素材を食物に添加すれば、当該有用微生物増殖促進素材に培養されている有用微生物や前記食物に含有されている有用微生物が更に増殖促進され、当該有用微生物の

有する種々の健康促進作用が発揮されるとともに、有害菌の増殖を確実に抑制させることができ、当該食物を食する生物の健康の維持を向上させることができる。

5 実験 2 : 本発明の味噌用麹菌である *Aspergillus oryzae* を用いた発酵大豆粕 (A O) による乳酸菌発酵促進実験

目的

実験 1 で乳酸菌の増殖促進を認めた発酵大豆粕 (A O) を乳酸菌を含む試料に添加することによって乳酸菌の増殖が促進されることを調べる。

実験方法

10 4 個のビーカーに、それぞれ牛乳を 100 ml、市販の乳酸菌飲料 (商品名 : ヤクルト) を 20 ml を入れ、比較区には発酵大豆粕 (A O) を添加しないでおき、試験区 1、2、3 にはそれぞれ発酵大豆粕 (A O) を 0.5 % 添加、1.0 % 添加、2.0 % 添加とした。その後、ウォーターバスにて各ビーカーを 40 °C に保温し、牛乳の分離の有無と、牛乳の pH とを
15 22 時間観察した。

結果

(1) 牛乳の分離について

20 発酵大豆粕 (A O) を 0.5 % 添加、1.0 % 添加、2.0 % 添加した全ての試験区 1、2、3 において、牛乳の分離があり、比較区においては牛乳の分離がなかった。各試験区 1、2、3 においては、それぞれ 4 時間後、2 時間後、1 時間後に分離が始まった。この牛乳の分離については、4 時間後の pH が初期とあまり変化のなかったことから、発酵大豆粕 (A O) を添加した牛乳が分離を起こしたのは乳酸菌によるものではなく、発酵大豆粕 (A O) 中の蛋白質分解酵素によるものであると考えられる。

(2) 牛乳のpHについて

牛乳のpHは表3のように変化した。

表 3

	比較区	試験区 1	試験区 2	試験区 3
大豆粕(AO)の添加量	無添加	0.5%添加	1.0%添加	2.0%添加
牛乳の分離	分離しなかった	4時間後に分離	2時間後に分離	1時間後に分離
pH(開始)	6.04	6.00	5.94	5.85
pH(4時間後)	5.95	5.92	5.88	5.81
pH(22時間後)	5.36	3.88	3.82	3.84

この表3より、4時間後のpHは全てにおいて大きな変動は見られなかったが、22時間後においては、比較区ではpH 5.91であるのに対し、発酵大豆粕(AO)を0.5%添加、1.0%添加、2.0%添加した各試験区1、2、3においてはそれぞれpH 3.8付近になった。このことは発酵大豆粕(AO)を添加すると、乳酸菌が増殖して牛乳のpHが低下することを意味している。そして、22時間後にpHが比較区に比較して各試験区1、2、3で明らかに減少したということは、本発明の発酵大豆粕(AO)を加えた場合、乳酸菌が効率よく増殖してその成長が明らかに旺盛であることを意味する。

実験3：抗生物質存在下における本発明の発酵大豆粕(AO)による乳酸菌発酵促進実験

目的

発酵大豆粕(AO)を抗生物質および乳酸菌を含む試料に添加することによって乳酸菌の増殖が促進されることを調べる。

実験方法

3 個のビーカーに、それぞれ牛乳を 1 0 0 m l、市販の乳酸菌飲料（商品名：ヤクルト）を 2 0 m l を入れ、比較区には発酵大豆粕（A O）を添加しないでおき、試験区 1、2 にはそれぞれ発酵大豆粕（A O）を 0. 5 % 添加、1. 0 % 添加し、比較区および試験区 1、2 においてペニシリン無添加、0. 02U/mL 添加、0. 2U/mL 添加とした。

その後、ウォーターバスにて各ビーカーを 4 0 °C に保温し、0、1、4、2 2 時間後の牛乳の p H を測定した。

結果

牛乳の p H は表 4、表 5、表 6 のように変化した。

表 4

比 較 区	大豆粕（A O）の添加なし		
	0 U/mL	0. 0 2 U/mL	0. 2 U/mL
0 時間後	6. 0 0	6. 0 1	6. 0 2
1 時間後	5. 9 4	5. 9 4	5. 9 5
4 時間後	5. 9 2	5. 9 4	5. 9 5
2 2 時間後	5. 0 5	5. 1 5	5. 7 7

表 5

試験区 1	大豆粕(AO)の0.5%添加		
ペニシリン	0 U/mL	0.02 U/mL	0.2 U/mL
0 時間後	5.97	5.96	5.96
1 時間後	5.91	5.91	5.92
4 時間後	5.91	5.91	5.92
22 時間後	4.09	4.16	4.56

表 6

試験区 2	大豆粕(AO)の1.0%添加		
ペニシリン	0 U/mL	0.02 U/mL	0.2 U/mL
0 時間後	5.92	5.90	5.89
1 時間後	5.86	5.85	5.83
4 時間後	5.86	5.85	5.84
22 時間後	4.05	4.13	4.37

この表4より比較区においては、ペニシリンの0.02U/mL添加区では育成の障害がそれほど起こらないものの、0.2U/mL 添加区ではペニシリンにより乳酸菌の育成が障害された。

表5および表6より発酵大豆粕(AO)を添加した培地においては、ペニシリンに影響されながらも乳酸菌(ラクトバチルス・カゼイ)は生育し、ペニシリンの0.2U/mL 添加の培地においても、発酵大豆粕(AO)を0.5%添加することによってペニシリンを添加していない比較区における生育よりも良好になった。

上記実験 2 および 3 より、本発明の有用微生物増殖促進素材は、有用微生物を含んでいる食物に添加されると、当該有用微生物に栄養を付与し、麴菌と共存共生し、当該有用微生物の増殖を促進させ、当該有用微生物の有する種々の健康促進作用が発揮されるとともに、有害菌の増殖を確実に抑制させることができ、当該食物を食する生物の健康の維持を向上させることができることが分かる。

実験 4 : 乳酸菌の同定

目的

人および動物の腸内で生育できる乳酸菌は腸内内容物を栄養源に増殖するが、この乳酸菌を発酵大豆が増殖促進作用することかを確認する。

実験方法

味噌用麴菌のアスペルギルス・オリゼを用いて本発明の製造方法に従って製造された発酵大豆粕（A O）から乳酸菌を分離し、表 7 に示す試験項目の試験を行なって乳酸菌の同定を行なった。

表 7

試 験 項 目	試 験 結 果
形 態	球 菌
グ ラ ム 染 色 性	+
胞 子	-
運 動 性	-
酸 素 に 対 す る 態 度	通 性 嫌 気 性
カ タ ラ ー ゼ	-
グルコースからのガスの生成	-
生 成 乳 酸	L (+)
1 0 ° C で の 生 育	+
4 5 ° C で の 生 育	+
6 . 5 % N a C l 存 在 下 で の 生 育	+
p H 9 . 6 で の 生 育	+
菌体内 DNA の G C 含 量 (m o l %)	4 0

(注) G : グアニン、C : シトシン

表 7 の性状から分離した乳酸菌は、エンテロコッカス属 (*Enterococcus* *sp.*) であると同定された。この乳酸菌は腸球菌といわれる消化管内常在菌であることを確認した。

5 実験 5 : 発酵大豆粕 (A O) のサルモネラ菌に対する増殖抑制試験
目的

10 アスペルギルス・オリゼを用いて本発明の製造方法に従って製造された発酵大豆粕 (A O) においては、腸球菌である乳酸菌のエンテロコッカス属が増殖することを実験 4 において確認している。従って、この発酵大豆粕 (A O) がサルモネラ菌に対して増殖抑制の作用効果があるかについて、
下記のテストを行なった。

実験方法

- 15 (1) 発酵脱脂大豆 (本発明品) 区
(2) 発酵脱脂大豆に 2 % のラクトースを添加した区
(3) 発酵脱脂大豆に 2 % のラクトースを添加し、さらに 3 種類の乳
酸菌を 添加した区
(4) 脱脂大豆区 (コントロール区)

20 上記 4 種類については、予め水分量が 5 0 重量 % となるように調整した。各々についてサルモネラ菌 2 種 (*Salmonella typhimurium* および *Salmonella enteritidis*) を接種した後、4 2 ° C で好氣的に培養した。接種直後、1 2 時間後、2 4 時間後にサンプルを採取し、サルモネラ菌を測定した。

結果

各区における前記サルモネラ菌の菌数変化は表 8 、表 9 のように変化した。

表 8

各区における *Salmonella typhimurium* の菌数変化

培 地	<i>Salmonella typhimurium</i> の生菌数 (C F U / m l)		
	0 時 間	1 2 時 間	2 4 時 間
発酵大豆区 (本発明品)	5. 4×10^3	2. 1×10^3	$< 10^1$
発酵大豆 (ラクトース)	5. 7×10^3	2. 2×10^3	$< 10^1$
発酵大豆 (ラクトース、乳酸菌添加)	5. 5×10^3	2. 1×10^3	$< 10^1$
脱脂大豆区	2. 1×10^4	2. 4×10^5	3. 1×10^6

表 9

各区における *Salmonella enteritidis* の菌数変化

培 地	<i>Salmonella enteritidis</i> の生菌数 (C F U / m l)		
	0 時 間	1 2 時 間	2 4 時 間
発酵大豆区 (本発明品)	5. 5×10^4	3. 4×10^3	$< 10^1$
発酵大豆 (ラクトース)	5. 7×10^4	3. 3×10^3	$< 10^1$
発酵大豆 (ラクトース、乳酸菌添加)	3. 4×10^4	2. 4×10^3	$< 10^1$
脱脂大豆区	3. 6×10^4	2. 4×10^5	4. 1×10^6

脱脂大豆にサルモネラ菌を添加すると、経時的に増加する傾向であったが、発酵脱脂大豆区では経時的に減少し、24時間では菌数が10個以下とほとんどのサルモネラ菌が死滅してしまったことが確認できた。このことは脱脂大豆を本発明のように麹菌で発酵させることで乳酸菌が増加したために、短鎖脂肪酸等の生成があり、有害微生物であるサルモネラ菌を抑制させる効果が発揮されたためである。ラクトースを添加することでは作用効果は増大しなかったし、また複数の乳酸菌を添加することでも作用効果の増大は認められなかった。このことは特別な処置を施さなくとも、発

酵大豆の工程で乳酸菌を増加させたことにより有害微生物の増殖を抑制させる作用効果が充分あることを示唆している。

5 更に、この作用効果は発酵脱脂大豆を動物に投与することで、発酵脱脂大豆の乳酸菌の増加を確認していることから、実際の発酵脱脂大豆を人や動物に投与することでサルモネラ菌に感染されても、発酵脱脂大豆の乳酸菌がサルモネラ菌を腸内で増加抑制する作用効果が期待できる。

10 一方、今井ら（油脂：Ⅶ 1・4 3，No・9，6 2－7 0（1 9 9 0））は納豆に半量の生卵および少量の辛子と醤油を加えて混ぜたものにサルモネラ菌（*Salmonella enteritidis*）を接種し、2 0℃に保存した場合、サルモネラ菌の増加を示したと報告している。このことは納豆菌はサルモネラ菌の増加に対しては抑制的ではないことを示唆している。

実験 6：動物での発酵大豆投与試験（1）

目的

15 離乳期子豚に対する実験 5 で用いた発酵大豆粕（A O）の添加給与が腸内菌叢に与える効果を確認する。

実験方法

20 試験は離乳直後（3 週齢）の子豚に暑熱ストレス（3 0℃、相対湿度 7 0～8 0％RH）を負荷し、生後 7 週齢までの 4 週間、発酵大豆粕（A O）を市販人工乳に添加した飼料を給与した（資料に対する添加量：0. 1 重量％、0. 5 重量％、無添加）。試験開始時、生後 5 週齢、生後 7 週齢の計 3 回、新鮮糞便を採取し、光岡らの方法に準拠して腸肉細菌の検索を行った。

結果

生後 5 週齢（給与開始 2 週目）において、0. 1％と 0. 5％の両添加

区において、発酵大豆に存在した乳酸菌の増加が認められた。その乳酸菌の多くは、無添加区には認められない短桿状のものであった。また、糞便性状に関しては給与開始4日目で変化が認められ、無添加区では軟便状態であったが、添加区では正常であった。

- 5 以上のことは発酵大豆粕（A O）に増殖する乳酸菌は消化管内常在菌であり、動物の消化管でも増加することが確認され、しかもストレス負荷による下痢の防止効果を有していることが確認された。

実験7：動物での発酵大豆投与試験（2）

目的

- 10 ラットに対する発酵大豆 A a の添加給与が腸内菌叢に与える効果を確認する。

実験方法

- 5 週齢、体重100～120 g の J c 1 : S D 系雄性ラットを市販の固形飼料にて7日間飼育し、飼育環境に馴化させた後、カゼイン飼料（n = 7）, （アスペルギルス・アワモリを使った）発酵脱脂大豆飼料（n = 7）
15 （本発明品）、未処理脱脂大豆飼料（n = 5）の3群に分け、3週間飼育した。それぞれの飼料組成は下記の表10の通りである。実験飼料と飲料水は自由摂取させた。3週間後の盲腸内容物の性状をそれぞれ比較した。

表 10

20

(g / K g)			
成 分	カゼイン飼料	発酵脱脂大豆飼料	未処理脱脂大豆飼料
カ ゼ イ ン	2 0 0	—	—
発 酵 脱 脂 大 豆	—	5 0 0	—
未 処 理 脱 脂 大 豆	—	—	5 4 8
ミ ネ ラ ル 混 合 物	3 5	3 5	3 5
ビ タ ミ ン 混 合 物	1 0	1 0	1 0
コ ー ン 油	5 0	5 0	5 0
大 豆 繊 維	2 5	—	1 3
蔗 糖	2 0 0	2 0 0	2 0 0
α コ ー ン ス タ ー チ	6 3 0	4 0 5	3 4 4

結果

結果は図 5 および図 6 に示す通りであつた。

5 図 5 より、発酵脱脂大豆を投与した区の盲腸内容物の pH が他に比べ、著しく低かった。このことは発酵脱脂大豆投与区では盲腸内容物中の短鎖脂肪酸の生成が他に比べて、著しく多かったためであり、腸内細菌が活発に増殖したためと思われる。

また、盲腸内容物の量も他に比べて、有意に多いことが分かった。このことについては下記のことが理由である。

10 未処理脱脂大豆を麹菌で製麹し、加水分解したものが発酵脱脂大豆である。原料的には同じものであるのかかわらず、未処理脱脂大豆を麹菌の酵素で分解した発酵脱脂大豆で盲腸内容物、すなわち、未消化物の量が増加したことは発酵脱脂大豆では発酵工程中にすでに酵素未分解物（＝未消化物）が生成されていることに起因していると考えられる。即ち、発酵脱脂大豆を投与することにより未消化物が増えることは、発酵脱脂大豆が投与間もなく消化管常在菌にとって都合のよい栄養源（未消化物）の働きをしていることが示唆できる。更には、大豆の発酵中に消化管常在菌である乳酸菌を増殖させることは、その乳酸菌が発酵脱脂大豆投与後に腸内で発酵脱脂大豆の酵素未分解物を栄養源として増加できるという特性を持っていることに他ならない。

20 一方、比較例を説明すると、渡辺ら（日本栄養・食糧学会誌 Vol. 48 No. 4 283-289 1995）はカゼイン投与区、納豆投与区および蒸煮大豆投与区の各区についてラットの成長と盲腸内菌叢に及ぼす影響を報告している。盲腸内 pH はカゼイン投与区に対してわずかに低下はあるものの、納豆投与区と蒸煮大豆投与区の間には差異がなかった。

この結果は発酵物である納豆では腸内で短鎖脂肪酸を生成させる働きが麹菌で発酵させた発酵脱脂大豆に比べて乏しいことを前述のわれわれの実験結果と比較すると示唆できる。発酵脱脂大豆が未処理大豆に比べても盲腸内pHを低下するのは、消化管常在乳酸菌の増殖促進の作用効果があるためである。

従って、発酵脱脂大豆の製造工程中に人や動物にとって有用な消化管常在菌である乳酸菌やビフィズス菌を添加し、増殖させることで、今までにない乳酸菌の製剤を作ることが可能となる。

実験8：レジスタントスターチに対する試験

目的

発酵脱脂大豆中の乳酸菌が市販の未消化物製剤（レジスタントアミロース：山之内製薬製商品名「ハイーメイズ」）に対して増殖するかを確認する。

実験方法

発酵脱脂大豆（A O）と未消化物製剤とを組み合わせた場合に乳酸菌が増殖するのかを調べるために、下記の4種類について水分量を75重量%になるように加水し、42℃で24時間培養後の乳酸菌数およびpHの変化を測定して比較した。

1）発酵脱脂大豆（A O）のみ

2）ハイーメイズ（コーンスターチ由来）に対して発酵脱脂大豆0.1重量%添加

3）コーンスターチ（（株）トーカン製）に対して発酵脱脂大豆0.1重量%添加

この場合、発酵脱脂大豆は製菌剤であり、 10^9 個/g程度の菌数が生

息しているので大量に投与する必要はない。

結果

各種類における乳酸菌数およびpHの変化は表11のように変化した。

表 1 1

		0 時 間	2 4 時 間
コーンスターチ	p H	4. 1 9	4. 1 2
	乳酸菌数	$1. 5 \times 10^5$	$1. 4 \times 10^4$
ハイ・メイズ	p H	5. 2 7	4. 3 7
	乳酸菌数	$2. 5 \times 10^5$	$9. 6 \times 10^7$
発 酵 大 豆	p H	5. 6 1	5. 7 2
	乳酸菌数	$1. 6 \times 10^6$	$3. 9 \times 10^9$

表11より、pHの低下が最も顕著であり、乳酸菌数の増加も顕著であったのはハイ・メイズであった。ハイ・メイズで発酵脱脂大豆中の乳酸菌の増加があり、pHの低下が顕著に認められたことは、この乳酸菌が未消化性のアミロースを栄養源にし、短鎖脂肪酸の生成していることを示唆している。

しかしながら、未消化性の成分の少ないコーンスターチでは乳酸菌の増加はなく、両者での明らかな違いが確認できた。

従って、動物等の腸内でのサルモネラ菌の対応としては発酵脱脂大豆（乳酸菌を含有している）と未消化性成分を多く含有するハイ・メイズ等のレジスタントスターチとを組み合わせることで、確実に短鎖脂肪酸を生成させることができるので増殖抑制の作用効果が期待できるからである。

また、前記のようにして製造された大豆粕を飼料等として利用する場合には、図2に示すように、前記各実施例のようにして製造された大豆粕をそれぞれ乾燥させ、その後粉碎することにより、粉碎大豆粕として利用するとよい。

このように本発明によれば、生きている麹菌を増殖させて穀類中のフィチン酸を除去したり、更に加水分解により生成物のより一層の低分子化を図り、この生成物を利用して有用微生物増殖促進素材を得ることができ、容易に生物の育成上、生物の健康を維持するために有効に作用する有用微生物を増殖促進させる有用微生物増殖促進素材を得ることができ、製造工程も簡単となり、製造コストも低廉となる。

また、フィチン酸からリン酸基を少なくとも2基遊離させることによりフィチン酸を除去すると、ミネラルの吸収がより効率的に行なわれる生成物を得ることができる。

なお、前記各実施例においては、蛋白質を主成分とする大豆粕に対して本発明を適用した場合を示したが、本発明は穀類として澱粉を主成分とする米等を利用することもできるし、米等と大豆粕とを混合して利用することもでき、少糖類等の糖質を含む穀類や、更に他の穀類の種類の組合せを利用することもできる。また、本発明はフィチン酸を含有する穀類を原料としたあらゆる生成物、すなわち人の食料から養殖用の飼料、餌料までに対して同様にして適用することができる。

また、本発明においては従来の製麹装置をそのまま利用して実施することができ、生産ベースの装置を特に製造する必要もなく、汎用性の高いものである。

なお、本発明は前記各実施例に限定されるものではなく、必要に応じて変更することができる。

請 求 の 範 囲

5 1) 穀類に麴菌を接種して製麴し、この製麴処理による生成物に加水することにより当該生成物中の蛋白質およびまたは糖質を加水分解するとともに前記穀類中のフィチン酸を所定量除去することにより製せられることを特徴とする有用微生物を増殖促進させる有用微生物増殖促進素材。

10 2) 穀類に麴菌を接種して製麴し、この製麴処理による生成物に加水することにより当該生成物中の蛋白質およびまたは糖質を加水分解するとともに前記穀類中のフィチン酸を所定量除去することにより製せられることを特徴とする有用微生物を増殖促進させる生成物と、
レジスタントスターチとの混合物からなる
有用微生物増殖促進素材。

15 3) 前記製麴処理による生成物中に含まれている有用微生物およびまたは前記製麴処理による生成物に添加された有用微生物が、前記加水分解の際に増殖促進させられていることを特徴とする請求項1または請求項2に記載の有用微生物増殖促進素材。

20 4) 前記有用微生物は、真菌類、乳酸菌およびビフィズス菌の中の少なくとも1種であることを特徴とする請求項1または請求項2または請求項3に記載の有用微生物増殖促進素材。

5) 穀類に麴菌を接種して製麴し、この製麴処理による生成物に加水

することにより当該生成物中の蛋白質およびまたは糖質を加水分解するとともに前記穀類中のフィチン酸を所定量除去して、有用微生物を増殖促進させる有用微生物増殖促進素材を製造することを特徴とする有用微生物増殖促進素材の製造方法。

5

6) 前記加水分解工程において、前記製麹処理による生成物中に含まれている有用微生物およびまたは前記製麹処理による生成物に添加された有用微生物が増殖促進させられることを特徴とする請求項5に記載の有用微生物増殖促進素材の製造方法。

10

7) 前記有用微生物は、真菌類、乳酸菌およびビフィズス菌の中の少なくとも1種であることを特徴とする請求項5または請求項6に記載の有用微生物増殖促進素材の製造方法。

15

20

THIS PAGE BLANK (USPTO,

1 / 2

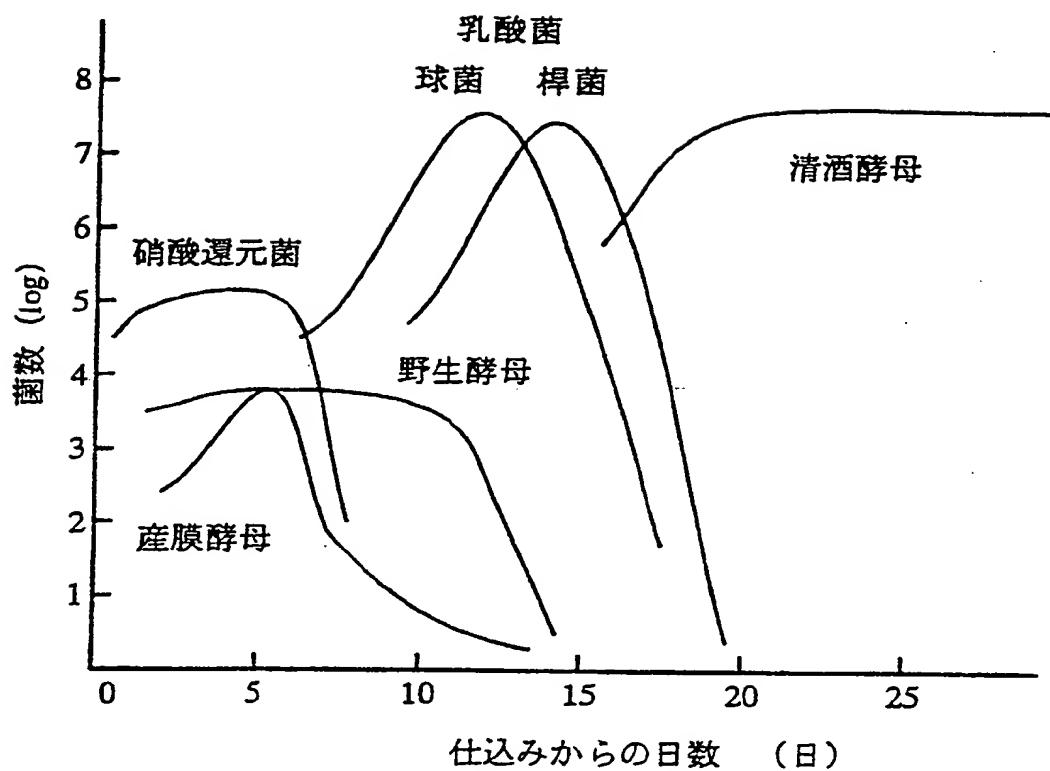


Fig. 1

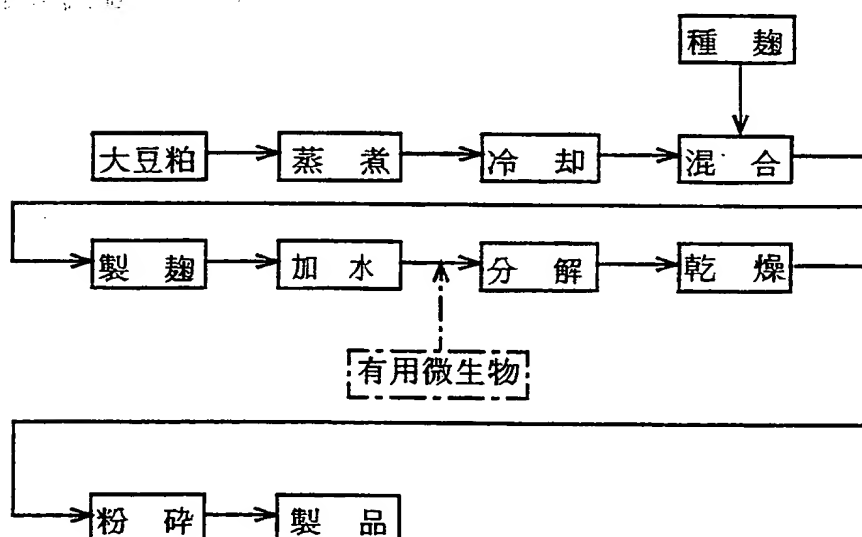


Fig. 2

THIS PAGE BLANK (USPTO)

2 / 2

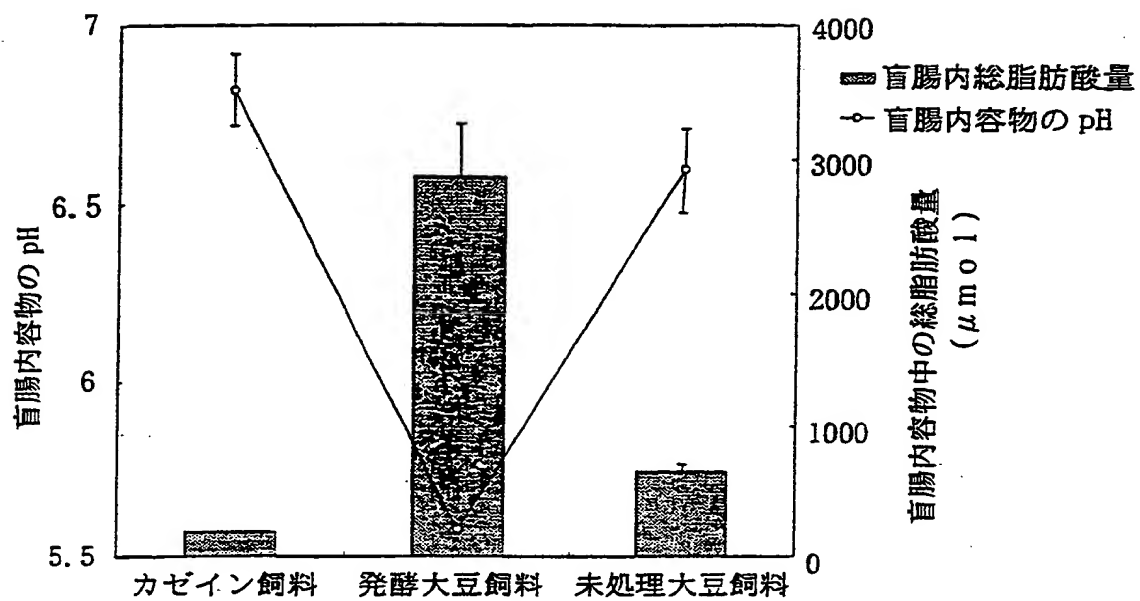


Fig. 3

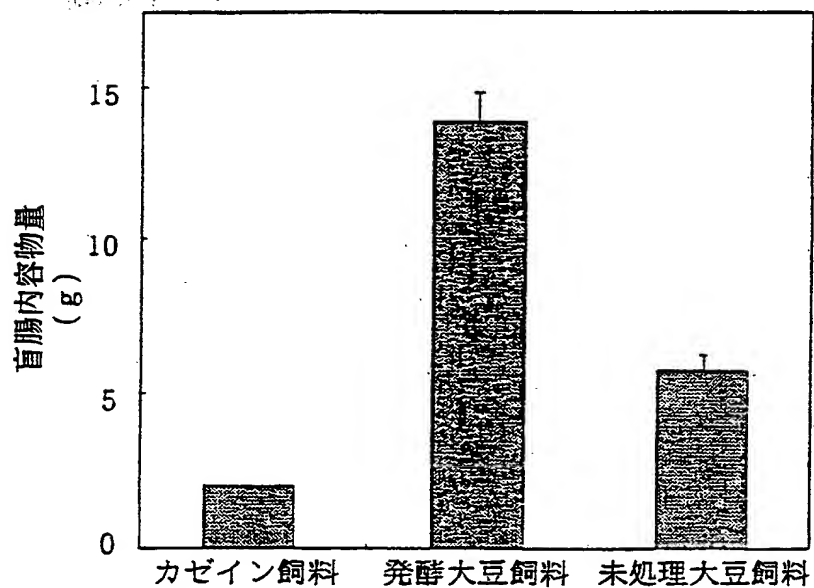


Fig. 4

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP98/03719

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.C1⁶ C12N1/14, C12N1/20

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.C1⁶ C12N1/14, C12N1/20

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
WPI (DIALOG)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP, 7-23725, A (Nichimo Co., Ltd.), 27 January, 1995 (27. 01. 95) & WO, 94/26127, A & EP, 649600, A	1-7
Y	JP, 3-19686, A (Kikkoman Corp.), 28 January, 1991 (28. 01. 91) (Family: none)	1-7
Y	JP, 7-170938, A (Matsutani Kagaku Kogyo Co., Ltd.), 11 July, 1995 (11. 07. 95) & EP, 659769, A & US, 5698437, A	2
A	JP, 2-289520, A (K.K. Hayashibara Seibutsu Kagaku Kenkyusho), 29 November, 1990 (29. 11. 90) & EP, 382355, A	1-7

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>	<p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"&" document member of the same patent family</p>
--	---

Date of the actual completion of the international search
22 October, 1998 (22. 10. 98)

Date of mailing of the international search report
4 November, 1998 (04. 11. 98)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

THIS PAGE BLANK (USPTO)